

Rec'd PCT/PTO 11 FEB 2005

PCT/PL03/00077

201524343

BEST AVAILABLE COPY



ZAŚWIADCZENIE

Andrzej LIPKOWSKI
Warszawa, Polska

Daniel CARR
Chestnut Hill, USA

Iwona BONNEY
Somerville, USA

Dariusz KOSSON
Warszawa, Polska

Aleksandra MISICKA-KĘSIK
Piastów, Polska

RECEIVED

26 FEB 2004

WIPO PCT

PRIORITY DOCUMENT

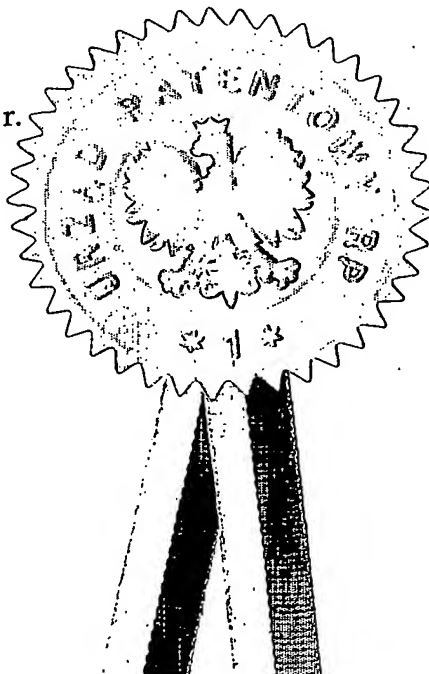
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

złożyli w Urzędzie Patentowym Rzeczypospolitej Polskiej dnia 13 sierpnia 2002 r. podanie o udzielenie patentu na wynalazek pt. „Zastosowanie peptydów o działaniu analgetycznym jako substancji czynnej w urządzeniach do podawania leku bezpośrednio do miejsca ich spodziewanego działania przeciwbólowego”.

Dołączone do niniejszego zaświadczenia opis wynalazku, zastrzeżenia patentowe i rysunki są wierną kopią dokumentów złożonych przy podaniu w dniu 13 sierpnia 2002 r.

Podanie złożono za numerem P-355470.

Warszawa, dnia 11 lutego 2003 r.



z upoważnienia Prezesa

mgr Jowita Mazur
Specjalista

Zastosowanie peptydów o działaniu analgetycznym jako substancji czynnej w urządzeniach do podawania leku bezpośrednio do miejsca ich spodziewanego działania przeciwbólowego

Przedmiotem wynalazku jest zastosowanie peptydów o działaniu analgetycznym jako substancji czynnej do stosowania w technikach podawania leków bezpośrednio do miejsca spodziewanego działania przeciwbólowego w ośrodkowym układzie nerwowym.

Ból i jego zwalczanie stanowi jedno z ważniejszych wyzwań współczesnej medycyny. W ciągu ostatnich kilkudziesięciu lat dokonano ogromnego postępu w opracowaniu nowoczesnych leków i metod ich podawania. Najpopularniejszymi metodami podawania leków przeciwbólowych stanowi podawanie doustne, przekórne, oraz domięśniowe. Leki przeciwbólowe stosowane w tych technikach muszą odznaczać się dużą selektywnością działania przeciwbólowego oraz właściwościami farmakologicznymi gwarantującymi efektywne przechodzenie przez bariery biologiczne, jak na przykład bariery skóra-układ krwionośny, jelitokrew, krew-mózg. Związki takie, po podaniu rozprzestrzeniają się w całym organizmie, w tym również przechodzą do ośrodkowego układu nerwowego gdzie powodują zablokowanie przekazywania bodźców bólowych na poziomie rdzenia kręgowego oraz percepcję bólu w mózgu. Do arsenału technik podawania ogólnego związków przeciwbólowych, w ostatnich latach opracowano szereg nowoczesnych technik podawania leku bezpośrednio do struktur gdzie spodziewane jest działanie na receptory biorące udział w obniżaniu lub generowaniu sygnału bólowego. Lek można wprowadzić w postaci roztworu w soli fizjologicznej stosując strzykawkę przedłużoną cewnikiem wprowadzoną do miejsca podania leku. Strzykawkę można zastąpić różnego rodzaju pompami infuzyjnymi pozwalającymi na równomierne doprowadzanie leku przez dłuższy okres i/lub też pozwalający na kontrolę ilości doprowadzonego leku przez lekarza i/lub pacjenta. Opis omawianych technik i urządzeń jest dobrze przedstawiony w pracy autorstwa D.B. Carr, M.J. Cousins pod tytułem "Spinal route of Analgesia. Opioids and future options", będącą rozdziałem książki pod tytułem "Neuronal blockade in clinical anesthesia and management of pain" (red. M.J. Cousins i P.O. Bridenbaugh), wydanej przez Lippincott-Raven Press, w Philadelphia, w roku 1998, str.915-983. Głównym celem leków analgetycznych są receptory w ośrodkowym układzie nerwowym, szczególnie w rdzeniu kręgowym. Jednakże w ostatnich latach stwierdzono występowanie receptorów modulujących bodźce bólowe również w miejscu uszkodzenia tkanki. Dlatego też niezależnie do analgezji ośrodkowego układu nerwowego, stosuje się miejscowe podawanie leku w miejsce pooperacyjne. We wszystkich tych nowoczesnych technikach podawania leku stosuje się tradycyjne leki analgetyczne jak morfina czy fentanyl. Związki takie charakteryzują się dużą zdolnością przenikania przez bariery biologiczne, więc ich użyteczność do stosowania miejscowego jest ograniczona.

W roku 1986 Andrzej W. Lipkowski uzyskał patent polski nr 131730 na "Sposób wytwarzania nowych peptydów o aktywności morfinopodobnej". Patent ten omawia między innymi syntezę związku o strukturze przedstawionej na rycinie 1. Związek ten zwyczajowo nazywa się bifalina. Badania bifaliny wykazały, że związek ten podawany dożylnie wykazuje poziom aktywności przeciwbólowej podobny do morfiny. Po podaniu bezpośrednio do ośrodkowego układu nerwowego obserwowano aktywność analgetyczną związku, jednakże poziom tej aktywności określany był różnie przez różnych badaczy.

Stosując dokładną kontrolę miejsca podawania, nieoczekiwanie okazało się, że bifalina podawana podpajęczynówkowo działa około tysiąc razy bardziej efektywnie przeciwbólowo niż

Andrzej W. Lipkowski
Daniel B. Carr
J. Bouney
Osman

morfina stosowana jako związek referencyjny, oraz nieoczekiwanie okazało się, że analogi bifaliny o sekwencjach podanych w tabeli 1 wykazują silną aktywność przeciwbólową porównywalną z bifaliną. Również nieoczekiwanie okazało się, że bifalina oraz jej analogi podawane w dawkach bardzo wysokich, aż do tysiąckrotnie przekraczających dawkę o minimalnym efekcie analgetycznym, nie wywołują depresji oddechowej stanowiącej zasadniczy niepożądany efekt działania morfiny oraz innych obecnie stosowanych analgetyków. Właściwości biologiczne bifaliny i jej analogów, takie jak bardzo wysoka aktywność antynocyceptywna oraz szeroki zakres bezpiecznego stosowania oraz mała zdolność do przechodzenia przez bariery biologiczne predysponują te związki do stosowania jako substancja czynna w urządzeniach do podawania związków biologicznie czynnych bezpośrednio do miejsca ich spodziewanego działania w ośrodkowym układzie nerwowym.

Zastosowanie peptydów o działaniu analgetycznym jako substancja czynna w urządzeniach do podawania leku bezpośrednio do miejsca ich spodziewanego działania przeciwbólowego, według wynalazku, polega na tym, że roztwór bifaliny lub analogu bifaliny lub też związki te w kombinacji z antagonistami tachykinin lub antagonistami cholecystokininy lub antagonistami aminokwasów pobudzających, stanowi wypełnienie urządzeń do podawania leku bezpośrednio do miejsca ich spodziewanego działania przeciwbólowego, w tym do przestrzeni podpajęczynówkowej zwierząt ssaków lub człowieka, przy czym urządzenia te mogą stanowić strzykawki przeznaczonej do podawania podpajęczynówkowego lub inne urządzenia stosowane do podawania leków do ośrodkowego układu nerwowego o działaniu automatycznym lub posiadających możliwość kontrolowania ilości podawanego roztworu przez pacjenta i/lub obsługę medyczną.

Tabela I.

Sekwencje aminokwasowe badanych peptydów, których aktywność antynocyceptywna w dawce 0.05 mikrograma podawana podpajęczynówkowo szczurowi, po 15 minutach od podania była większa od 50% MPE.

1. (Tyr-D-Ala-Gly-Phe-NH)₂
2. (Tyr-D-Ser-Gly-Phe-NH)₂
3. (Tyr-D-Thr-Gly-Phe-NH)₂
4. (Tyr-D-Met-Gly-Phe-NH)₂
5. (Tyr-D-Asn-Gly-Phe-NH)₂
6. (Tyr-D-Leu-Gly-Phe-NH)₂
7. (Tyr-D-Gln-Gly-Phe-NH)₂
8. (Tyr-D-Ala-Gly-Trp-NH)₂
9. (Tyr-D-Ser-Gly-Trp-NH)₂
10. (Tyr-D-Thr-Gly-Trp-NH)₂
11. (Tyr-D-Met-Gly-Trp-NH)₂
12. (Tyr-D-Leu-Gly-Trp-NH)₂
13. (Tyr-D-Gln-Gly-Trp-NH)₂
14. (Tyr-D-Asn-Gly-Phe-NH)₂

gdzie poszczególne reszty aminokwasów oznaczone są w kodzie trzyliterowym: Tyr oznacza L-tyrozynę, D-Ala oznacza D-alaninę, D-Ser oznacza D-serynę, D-Thr oznacza D-treoninę, D-Met oznacza D-metioninę, D-Asn oznacza D-asparaginę, D-Gln oznacza D-glutaminę, Gly oznacza glicynę, Phe oznacza L-fenylalaninę.

*Attest w-dipl.
Daniel B. Carr
J. B. Carr
16/09/00*

Roztwór bifaliny lub analogu bifaliny, według wynalazku może stanowić roztwór w soli fizjologicznej, zawierającej lub nie zawierającej dodatkowe substancje wspomagające działanie analgetyczne. Do substancji wspomagających działanie analgetyczne bifaliny, według wynalazku, zalicza się antagonistów NMDA i/lub antagonistów tachykinin i/lub antagonistów cholecystokininy.

Przykład I.

Do przestrzeni podpajęczynówkowej w odcinku szyjnym kręgosłupa szczura wprowadzano cewnik silikonowy o średnicy zewnętrznej 0,64 mm i średnicy wewnętrznej 0,3 mm. Cewnik długości 12 cm został przygotowany w następujący sposób: w odległości 7,5 cm od końca cewnika wykonano na nim ogranicznik z miękiego kleju silikonowego. Pozostały 4,5 cm odcinek cewnika wyprowadzony na zewnątrz łączono z igłą 30G połączoną ze strzykawką Hamiltona o pojemności 25 mikrolitrów. Implantacja cewnika przeprowadzono w znieczuleniu ogólnym. Po wygoleniu sierści z karku i szyi, szczura umieszczano w aparacie stereotaktycznym. Nacięcie skóry długości 1,5 cm wykonywano w linii pośrodkowej tylnej, wzdłuż kręgosłupa. Po dotarciu do mięśni rozsuwano je na boki i wypreparowywano dostęp do błony podstawnej. Błone podstawną nacinano. Przez otwór w oponie wprowadzano wcześniej przygotowany i wypełniony jałowym roztworem soli fizjologicznej silikonowy cewnik na głębokość 7,5 cm w kierunku doogonowym tak, aby jego koniec znalazł się na wysokości L1. Zszywano mięśnie i skórę. Po wyprowadzeniu ze znieczulenia ogólnego umieszczano szczury w osobnych klatkach. Bifalinę podawano i dokonywano pomiarów w drugiej dobie po operacji. Wszystkie podpajęczynówkowe wstrzyknięcia wykonywane były w stałej objętości 10 mikrolitrów. Po wstrzyknięciu cewnik przepłukiwano 15 mikrolitrami jałowego roztworu soli fizjologicznej. Analgezję mierzono w oparciu o test cofania ogona, w którym stosowano bodziec termiczny w postaci wiązki światła o temperaturze 55°C. Temperaturę i zoogniskowanie wiązki światła ustalano tak, aby czas reakcji szczurów przed podaniem związków mieścił się w granicach 2-3 sekundy. Maksymalny czas drażnienia ogona nocyceptywnym bodźcem świetlnym ustalono na 7 sekund, aby nie powodować oparzeń ogona związanych z przedłużoną ekspozycją tkanek na działanie temperatury. Próg czucia bodźca nocyceptywnego określano przed podaniem badanych związków oraz w 5, 15, 30, 60 i 120 minucie po podaniu. Stopień analgezji wyrażano jako procent maksymalnego możliwego efektu (oznaczany jako %MPE) obliczanego według wzoru:

$$\%MPE = \frac{T(5-120) - T(0)}{7 - T(0)} \times 100$$

gdzie T(0) stanowi czas reakcji przed podaniem związku; T(5-120) czas reakcji po podaniu w odpowiednim przedziale czasowym, 7 stała czasowa.

Po przeprowadzonym doświadczeniu oznaczano lokalizację cewnika i miejsca do którego docierał wstrzykiwany związek stosując prześwietlenie roentgenowskie rdzenia po wstrzyknięciu roztworu octanu ołowiu. Do analizy kwalifikowano zwierzęta które miały prawidłowo założony cewnik.

Działanie analgetyczne bifaliny zaobserwowano dla minimalnej dawki 0,005 mikrograma. Efekt antynocyceptywny wynosił 68% MPE w 5 minucie, narastając do 74% MPE w minucie 15, aby następnie powoli spadać do 30% MPE w minucie 30. Po godzinie czułość na bodziec termiczny powróciła do normy.

Przykład II.

afordg w. diploma
David B. Can
J. Bower
16 Jan
at Bristol

Doświadczenie wykonano w warunkach identycznych jak w przykładzie I, z tym, że dawką badaną było 0,5 mikrograma bifaliny. Uzyskane efekty antynocyceptywne wynosiły odpowiednio 90% MPE po 5 minutach od podania, 98% MPE po 15 minutach od podania, 100% MPE po 30 minutach od podania, 70% po 1 godzinie od podania, oraz 27% MPE po dwóch godzinach od podania. Nie obserwowano żadnych efektów niepożądanego działania.

Przykład III.

Doświadczenie wykonano w warunkach identycznych jak w przykładzie I, z tym, że substancjami czynnymi była bifalina w dawce 0.005 mikrograma oraz ketamina w dawce 100 mikrogramów. Uzyskany efekt antynocyceptywny wynosił odpowiednio 100% MPE po 5 minutach, 100% MPE po 15 minutach, 98% MPE po 30 minutach, 52% MPE po 1 godzinie oraz 8% MPE po 2 godzinach od podania związków. Nie obserwowano żadnych efektów niepożądanego działania związków.

Przykład IV.

Doświadczenie wykonano w warunkach identycznych jak w przykładzie I z tym, że substancją czynną był analog bifaliny (Tyr-D-Thr-Gly-Phe-NH-)₂ w dawce 0.05 mikrograma. Uzyskane efekty antynocyceptywne wynosiły odpowiednio 100% MPE po 5 minutach, 78% MPE po 15 minutach, 41% po 30 minutach oraz 10% MPE po 1 godzinie po podaniu substancji czynnej. Żadnych efektów niepożądanego działania nie obserwowano.

Przykład V

Doświadczenie wykonano w warunkach identycznych jak w przykładzie I z tym, że substancją czynną był analog bifaliny (Tyr-D-Gln-Gly-Phe-NH-)₂ w dawce 0.05 mikrograma. Uzyskane efekty antynocyceptywne wynosiły odpowiednio 100% MPE po 5 minutach, 68% MPE po 15 minutach, 50% po 30 minutach oraz 18% MPE po 1 godzinie po podaniu substancji czynnej. Żadnych efektów niepożądanego działania nie obserwowano.

Przykład VI

Doświadczenie wykonano w warunkach identycznych jak w przykładzie I z tym, że substancją czynną był analog bifaliny (Tyr-D-Met-Gly-Phe-NH-)₂ w dawce 0.05 mikrograma. Uzyskane efekty antynocyceptywne wynosiły odpowiednio 100% MPE po 5 minutach, 98% MPE po 15 minutach, 80% po 30 minutach oraz 42% MPE po 1 godzinie po podaniu substancji czynnej. Żadnych efektów niepożądanego działania nie obserwowano.

Przykład VII

Doświadczenie wykonano w warunkach identycznych jak w przykładzie I z tym, że substancją czynną był analog bifaliny (Tyr-D-Leu-Gly-Trp-NH-)₂ w dawce 0.05 mikrograma. Uzyskane efekty antynocyceptywne wynosiły odpowiednio 100% MPE po 5 minutach, 100% MPE po 15 minutach, 62% po 30 minutach oraz 30% MPE po 1 godzinie po podaniu substancji czynnej. Żadnych efektów niepożądanego działania nie obserwowano.

Przykład VIII.

Doświadczenie wykonano w warunkach identycznych jak w przykładzie I, z tym, że dawką badaną było 25 mikrograma bifaliny. Po trzech minutach od podania zaobserwowano sztywność mięśni kończyn i grzbietowych z zachowaną zdolnością oddychania. Sztywność utrzymywała się przez 4 godziny, a następnie przez 3 godziny zwierzę nie reagowało na żadne bodźce bólowe. Po

Lucy W. diplo
David B. Can
J. B. ...
16550
0.0. 0.

następnych 2 godzinach uzyskany efekt antynocyceptywny w badaniu opisanym w przykładzie I, wynosił 80% MPE. Po 12 godzinach odpowiedź na bodźce bólowe oraz zachowanie zwierzęcia odpowiadało normie.

Przykład IX.

Doświadczenie wykonano w warunkach identycznych jak w przykładzie I, z tym, że po jednorazowym podaniu 0,005 mikrograma bifaliny, podawano po upływie 0.5 godziny, 0.003 mikrograma bifaliny i kontynuowano podawanie 0,003 mikrograma bifaliny w odstępach półgodzinnych przez 8 godzin. Mierzono antynocycepcję w odstępach 1 godzinnych. Stwierdzono, że efekt antynocyceptywny utrzymywał się przez cały okres doświadczenia na poziomie 80% MPE. Nie obserwowano żadnych efektów niepożądanych.

Atydy W. dyplad
Daniel B. Can
J. B. Bony
G. Sam
K. M. B. Bony

4

Zastrzeżenia patentowe

1. Zastosowanie peptydów o działaniu analgetycznym jako substancja czynna w urządzeniach do podawania leku zwierzętom ssakom lub ludziom bezpośrednio do miejsca ich spodziewanego działania przeciwbólowego w ośrodkowym układzie nerwowym, znamienny tym, że peptydy stanowią grupę analogów peptydu o nazwie bifalina, której wzór chemiczny podany jest na rycinie 1.
2. Zastosowania peptydów stanowiących grupę analogów peptydu o nazwie bifalina, o ogólnym wzorze podanym na rycinie 2, znamienny tym, że R1 oznacza resztę aminokwasową D-alaniny lub D-seryny lub D-treoniny lub D-metioniny lub D-leucyny lub D-asparaginy lub D-glutaminy, oraz R2 oznacza resztę aminokwasową fenyloalaniny lub tryptofanu.
3. Sposób zastosowania peptydów o strukturze według zastrzeżenia 1 oraz 2, znamienny tym, że peptyd stosuje się w formie roztworu w soli fizjologicznej.
4. Zastosowania peptydów o strukturze według zastrzeżenia 1 oraz 2, znamienny tym, że peptyd stosuje się w formie roztworu w soli fizjologicznej zawierające inne związki aktywne, najkorzystniej blokujące aktywność receptorów aminokwasów pobudzających i/lub receptory tachikinin i/lub receptory cholecystokinowe.
5. Zastosowania peptydów o strukturze według zastrzeżenia 1 oraz 2, znamienny tym, że peptyd lub aktywne mieszanki zawierający peptyd określone zastrzeżeniem 3 i 4 stosuje się w formie roztworu jako wypełnienie strzykawki lub pompy infuzyjnej przedłużonej cewnikiem doprowadzającej peptyd do miejsca działania.

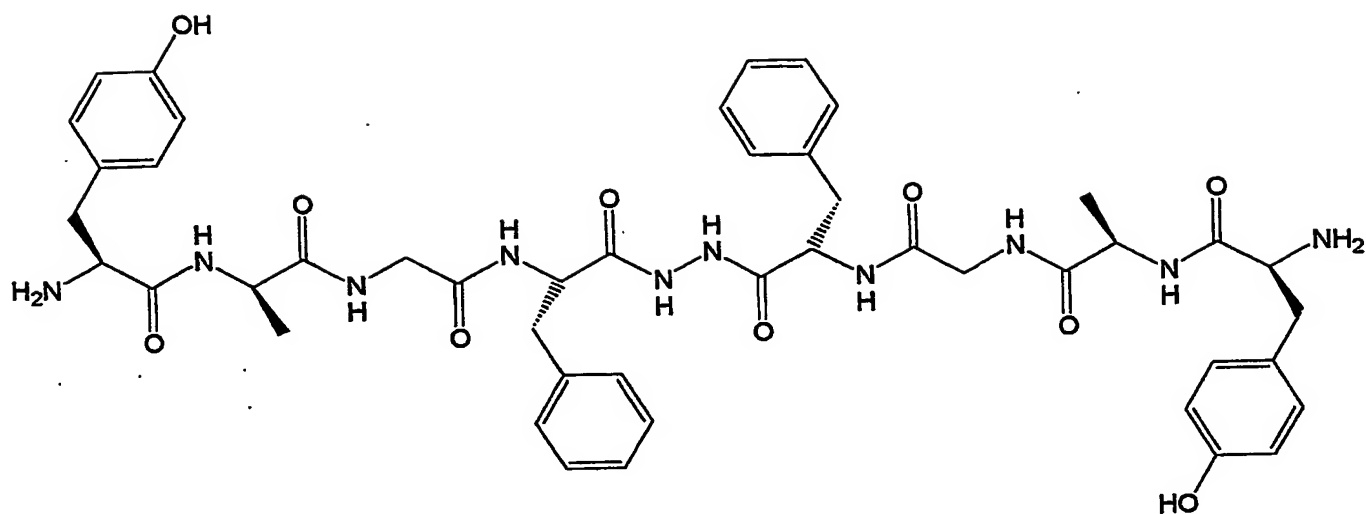
Ally W. Dickman

David B. Carr

J. Bong

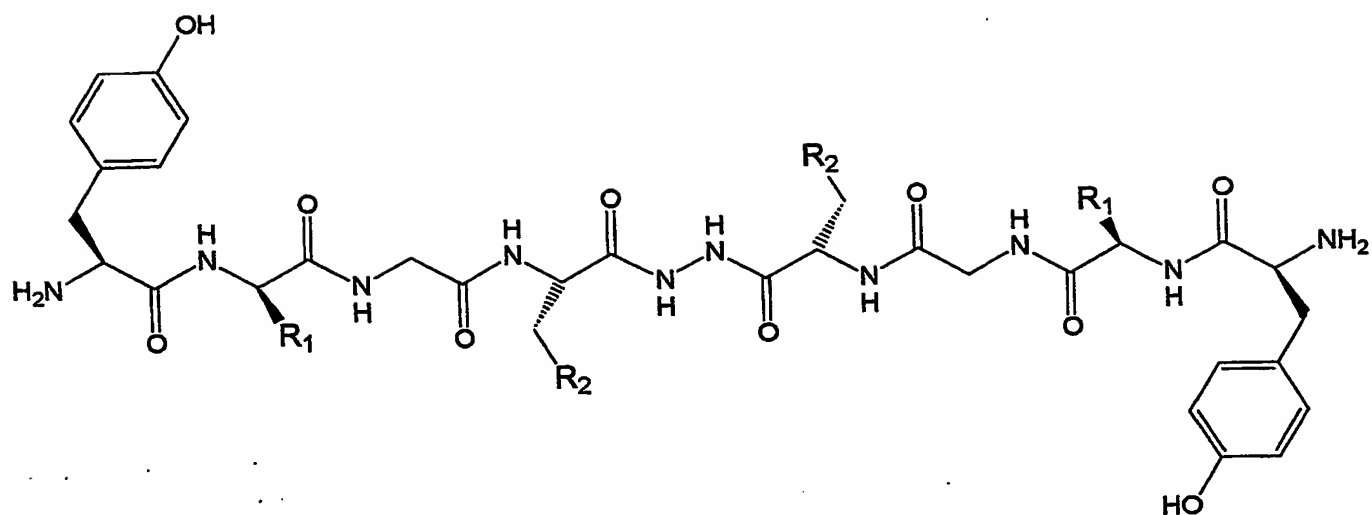
1656m

a. Hissler



Rycina 1. Wzór chemiczny bifaliny

Adipol.
Daniel B. Carr
J. B. Carr
B. Carr
& H. Carr.



R_1 = D-Ala lub D-Ser lub D-Thr lub D-Met lub D-Leu lub D-Asn lub D-Gln

R_2 = Phe lub Trp

Rycina 2. Wzór ogólny peptydów objętych wynalazkiem

Andrzej W. Dętko
David B. Carr
J. Bouy
1655
Ch. Hirsch

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.